

キトサンオリゴ糖の創傷治癒促進作用

千葉 有 釜田 朗¹ 松渕 志帆

田谷かほる 齋藤 高弘¹ 五十嵐治義

Facilitative Effects of Chitooligosaccharides on Wound Healing

Yu CHIBA, Akira KAMADA¹, Shiho MATSUBUCHI
Kahoru TAYA, Takahiro SAITO¹ and Haruyoshi IGARASHI

Chitosan is a natural macromolecule that can be obtained by deacetylation of chitin in concentrated alkaline solution, and it has been known to exhibit various pharmacological actions, including facilitative effects on wound healing. Chitooligosaccharides are oligosaccharides composed of two to seven glucosamine residues, which are the basic molecules of chitosan. Systemic administration of chitooligosaccharides facilitates wound healing, but its mechanism remains largely unknown. The present study was investigated the effects of systemic administration of chitooligosaccharides on healing of the oral mucous membrane *in vitro* and *in vivo*. Human gingiva-derived fibroblast were incubated with 0.25–1.0% of chitooligosaccharides, and the cell number was counted after 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours. In addition, to determine whether systemic administration of chitooligosaccharides facilitates healing of mouse oral mucous membrane damaged by neodymium YAG laser irradiation, the oral mucous membrane was sampled at certain times after laser irradiation and was analyzed histologically. The results were as follows :

1. With 0.5–0.75% of chitooligosaccharides, the number of fibroblasts increased during the early stages of incubation, but with high concentrations of chitooligosaccharides, the number of fibroblast decreased.
2. Systemic administration of chitooligosaccharides facilitated proliferation of fibroblast, while continuous high-dose administration suppressed proliferation.

The above findings clarify that chitooligosaccharides facilitate the proliferation of fibroblast *in vitro* and that systemic administration facilitates wound healing *in vivo*. In addition, there appear to be optimal doses in both *in vitro* and *in vivo* applications.

Key words : chitin, chitosan, chitooligosaccharides, wound healing, fibroblast

緒 言

キトサンは、N-アセチルグルコサミン

(GlcNAc) が β 1, 4グリコシド結合した直鎖の
多糖であるキチンを濃アルカリ中で脱アセチル化
することにより得られる天然高分子である¹⁾。キ

受付：平成15年12月25日，受理：平成16年1月15日
奥羽大学歯学部歯科薬理学講座
奥羽大学歯学部診療科学講座¹

Department of Dental Pharmacology, Ohu University
School of Dentistry
Department of Therapeutic Science, Ohu University
School of Dentistry¹

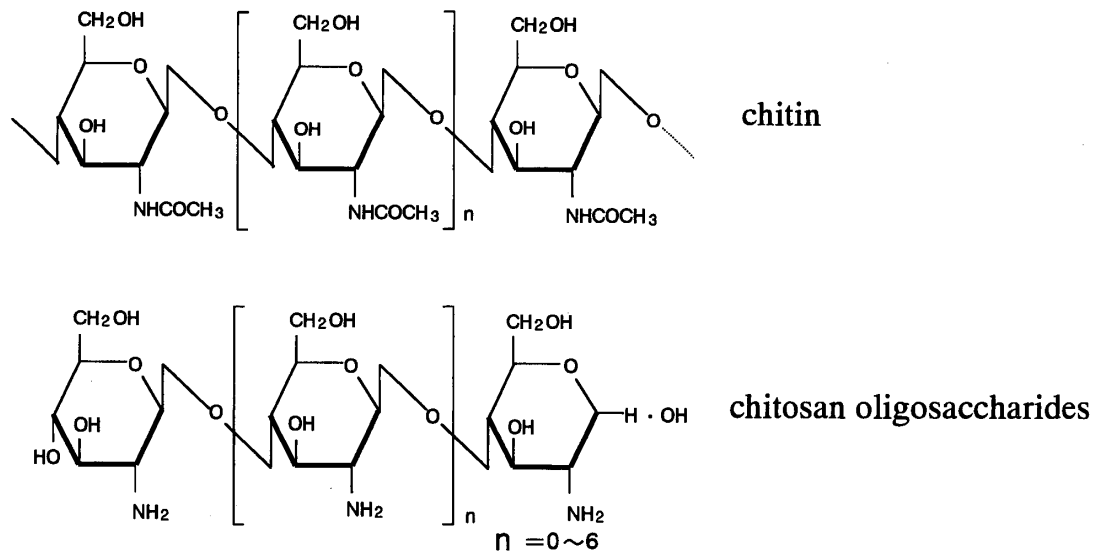


Fig. 1 Chemical structures of chitin and chitosan oligosaccharides

チンおよびキトサンは自然界に広く存在する天然多糖類の一種であるが、創傷治癒促進作用²⁾をはじめ抗腫瘍作用³⁾、血清コレステロール低下作用⁴⁾、血圧低下作用⁵⁾、抗菌作用⁶⁾などの作用を有することが相次いで発見され、貴重なバイオマス（生物資源）として関心を集めている。特に創傷治癒促進作用は注目に値し、基礎実験⁷⁻⁹⁾のみならず臨床においても優れた成績¹⁰⁻¹²⁾を示すことが知られている。

一方、近年ではキチンおよびキトサンを低分子化したキチンおよびキトサンのオリゴ糖 (Fig. 1) も開発され、注射による投与も可能になった。しかし、これらオリゴ糖を経口投与した場合の薬理作用については免疫細胞活性化作用や抗腫瘍作用等の検討¹³⁾が進められているものの不明な点も多く、特にキトサンオリゴ糖が創傷の治癒過程に及ぼす影響については十分に検索されていない。そこで本研究では、全身投与のキトサンオリゴ糖が口腔粘膜面の創傷治癒過程にどのような影響を及ぼすのか、ヒト歯肉由来線維芽細胞およびICRマウス口腔粘膜を用いて *in vitro* および *in vivo* の両面から検討し、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

1. 実験薬剤

キトサンオリゴ糖（以下COS-Y, YSK焼津水産化学工業株式会社, 静岡）を0.25~10.0%の各

濃度に調製し、0.45 μm のフィルター（Minisart, Sartorius, Germany）を通過させた後に実験に供した。また、Table 1にCOS-Yに含まれる各オリゴ糖の割合を示した。なお対照には0.9%の生理食塩液を用いた。

2. ヒト歯肉由来線維芽細胞

本学歯学部附属病院口腔外科において、同意が得られた健康成人の歯肉組織を第三大臼歯抜歯時に採取した後、カナマイシン（80mg/l）含有PBSで洗浄を行った。続いて組織片を細断し直径35mmのシャーレに静置後、培地を加えて初代培養をCO₂インキュベーター内で37°C 5%CO₂の条件下で行った。3日毎に培地の交換を行いながら2週間培養した後、6日ごとに継代培養を行い、3~4代目の細胞を実験に用いた。なお、培養は80mg/lカナマイシンを含む10%FBS Dulbecco's Modified Eagle Medium（以下DMEM培地, Gibco, USA）を用いて行った。また継代は0.1%トリプシン・0.02%EDTA-PBSを用い、1×10⁴個/cm²の割合で細胞を播種後、CO₂インキュベーター内で培養することで行った。

3. 実験動物

6週齢の雄性ICRマウス（日本SLC, 浜松）1群3匹を用いた。飼育は本学歯学部動物実験研究施設で行い、室温22~24°C・湿度50~60%の環境下でマウス用固形飼料（CE-2, 日本クレア, 東京）と水道水を自由に摂取させた。

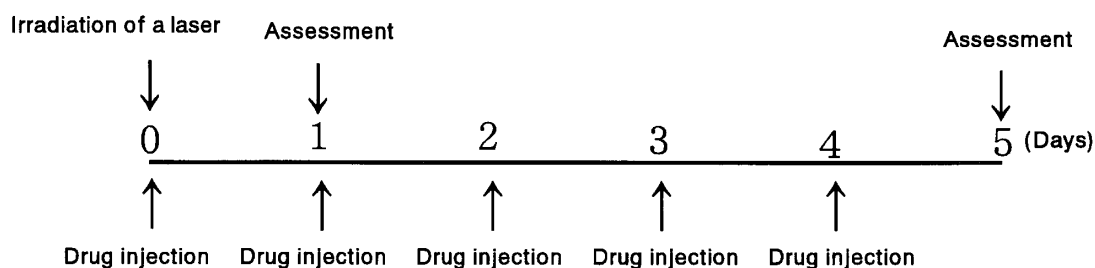


Fig. 2 Schedule of experiments

Table 1 Percent of composition of each oligosaccharide included in COS-Y

Chitobiose	(GlcN ₂)	9.8%
Chitotriose	(GlcN ₃)	23.8%
Chitotetraose	(GlcN ₄)	27.9%
Chitopentaose	(GlcN ₅)	23.9%
Chitohexaose	(GlcN ₆)	9.9%
Chitoheptaose	(GlcN ₇)	4.7%

(D-glucosamine : GlcN)

Table 2 Experimental conditions of laser irradiation

Contents	Condition
Wavelength	1.06 μm
Puls energy	100mJ
Pulse rate	20pps
Power	2.0w
Irradiation time	5sec

4. *In vitro*における線維芽細胞数の測定

96穴のマイクロプレートにヒト線維芽細胞を播種 (5×10^3 cells/well) した培地をそれぞれ $100 \mu\text{l}$ 分注し、CO₂ インキュベーター内で24時間培養後、最終濃度がそれぞれ0.25%, 0.5%, 0.75%, 1.0%になるように調製したキトサンオリゴ糖添加培地 (キトサンオリゴ糖を含むFBS含有DMEM培地) $100 \mu\text{l}$ と交換してさらに培養を続けた。そして、キトサンオリゴ糖添加培地に交換後24, 48, 72, 96, 120および144時間目に細胞増殖測定用試薬 (Cell Counting Kit-8, 和光純薬, 大阪) をそれぞれ $10 \mu\text{l}$ 添加して4時間インキュベートした後、マイクロプレートリーダー (Multiskan JX, Thermo Labsystems, USA) を用いて波長450nmの吸光度を測定した。

5. *In vivo*における口腔内撮影および組織標本の作製

1%, 5%および10%のキトサンオリゴ糖溶液、

あるいは生理食塩液0.2mlをマウス腹腔内に投与した後、背部皮下に1%ペントバルビタールナトリウム (ネンブタール注射液[®], 大日本製薬, 大阪) を投与, 麻酔の後, 口角部口腔粘膜にネオジウムYAGレーザー (オペレーターNd1, Yoshida, 東京) により一定の侵襲を加えて創傷を形成させた。なお, 各実験群間で侵襲の規模に差異が生じないように, レーザーの照射条件を一定に調整した (Table 2)。その後1日1回, キトサンオリゴ糖溶液を腹腔内に毎日投与しながら, レーザー照射から24時間あるいは5日目に達するまで飼育を続けた。したがって24時間後に評価した動物における薬物投与回数は1回, 5日目に評価した動物における投与回数は5回である (Fig. 2)。

レーザー照射後24時間後と5日後に照射部位粘膜面の写真撮影を接写レンズ (Medical Nikkor, Nikon, 東京) を用いて行った後, 照射部位口腔粘膜の摘出を行った。摘出した頬粘膜は2日間10%中性ホルマリン緩衝液にて浸漬固定させた後, 液体窒素で急速凍結を行った。続いてクリオスタットを用いて厚さ $10 \mu\text{m}$ の矢状断連続切片とし, 通法にしたがってH・E染色を施し組織標本作製して, 光学顕微鏡 (ECLIPSE E600, Nikon, 東京) により標本の観察と写真撮影を行った。

6. 統計処理

一元配置分散分析を用い, 危険率5%以下で有意差が認められたものについてはFisherのPLSD法により多重比較を行った。

結 果

- キトサンオリゴ糖の存在がヒト歯肉由来線維芽細胞の増殖に及ぼす影響
各濃度のキトサンオリゴ糖と共にヒト歯肉由来

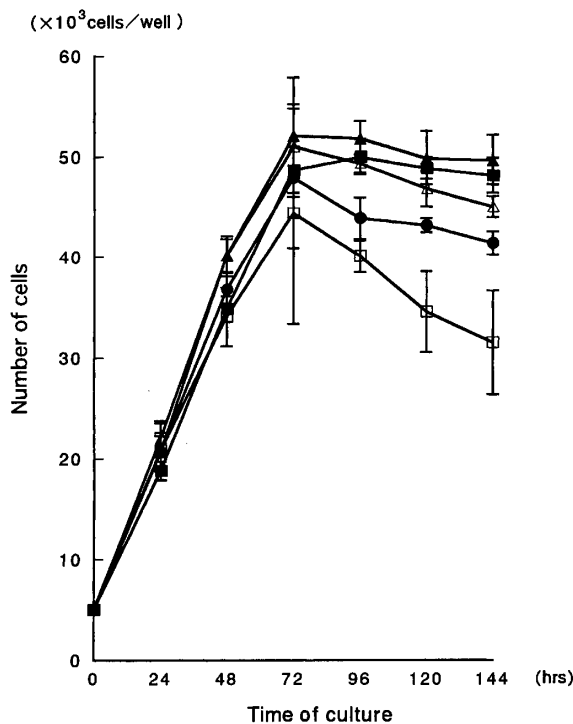


Fig. 3 Effects of chitosan oligosaccharides of fibroblast control group (■), 0.25%chitosan oligosaccharides group (●), 0.5%chitosan oligosaccharides group (▲), 0.75%chitosan oligosaccharides group (△), 1%chitosan oligosaccharides group (□)

Table 3 Number of cells of each group after 48 hours

Group	Number of cells ($\times 10^3$)
control group	34.86 \pm 1.27
0.25% chitosan oligosaccharides group	36.79 \pm 1.66
0.5% chitosan oligosaccharides group	40.17 \pm 1.64
0.75% chitosan oligosaccharides group	40.11 \pm 2.00
1% chitosan oligosaccharides group	34.10 \pm 2.90

※※: $p < 0.01$ (Fisher's PLSD)

線維芽細胞を培養した場合の細胞数の推移を Fig. 3に示した。キトサンオリゴ糖を添加していない対照群においては培養開始から72時間後 ($48.68 \pm 2.27 \times 10^3$ cells/well) までは急速な細胞数の増加を認め、96時間後 ($50.00 \pm 1.70 \times 10^3$ cells/well) にコンフルエントに達した。その後の120時間後 ($48.88 \pm 1.06 \times 10^3$ cells/well) から144時間後 ($48.12 \pm 1.75 \times 10^3$ cells/well) まで細胞数は緩慢な減少を示したが、ほぼプラトーな状態であった。一方、キトサンオリゴ糖添加群においては培養開始の初期において細胞数が増加する

傾向にあり、対照群と比較して0.5%あるいは0.75%キトサンオリゴ糖添加群における細胞数の有意な増加が認められた (Table 3)。しかし、添加したキトサンオリゴ糖の濃度が0.25%以下の実験群や、1%以上の実験群にはこのような対照群を有意に上回る細胞数の増加現象は認められなかった。また、培養開始から48時間以外の培養時間ではキトサンオリゴ糖の添加による細胞増殖促進作用は認められず、むしろ培養開始後96、120、144時間後においては対照群と比較して0.25%添加群と1%添加群に細胞数の低下が認められた。

2. キトサンオリゴ糖の全身投与が創傷治癒経過に及ぼす影響

1) 口腔内所見

レーザー照射後の口腔内所見を Fig. 4a~dに示した。照射直後においては、照射部位の口腔粘膜は蒸散、陥凹し、その表面は著しく粗造な状態を呈していた (Fig. 4a)。一方、照射から5日間が経過した対照群では、照射部位を中心に広い範囲に白濁色の偽膜が観察され、これにより創傷部位が完全に覆われている状態であった。また、対照群においては角化が進行しているようにも見えたが、上皮化は明瞭ではなかった (Fig. 4b)。キトサンオリゴ糖の1%投与群においては、対照群と比較して偽膜の面積が少なく、レーザーによって蒸散した部分より若干広い範囲に偽膜があるにすぎなかった。また、偽膜周辺の一部には上皮化が進行していると思わせる部分も観察された (Fig. 4c)。10%投与群では、偽膜の面積は対照群と比較してやや小さく感じられるものの、1%投与群で見られた上皮化の進行を思わせる部位は認められなかった (Fig. 4d)。

2) 照射24時間後の組織像

照射24時間後における4倍拡大像を Fig. 5a~dに示した。すべての実験群において、上皮の蒸散が認められたのに加え、ヘマトキシリンに濃染する炎症性細胞が、表層部位に密集していることが観察された。このような好中球をはじめとする炎症性細胞の細胞浸潤は、対照群と比較して1%投与群で比較的強く現れる傾向にあった (Fig. 5a, b)。

3) 照射5日後の組織像

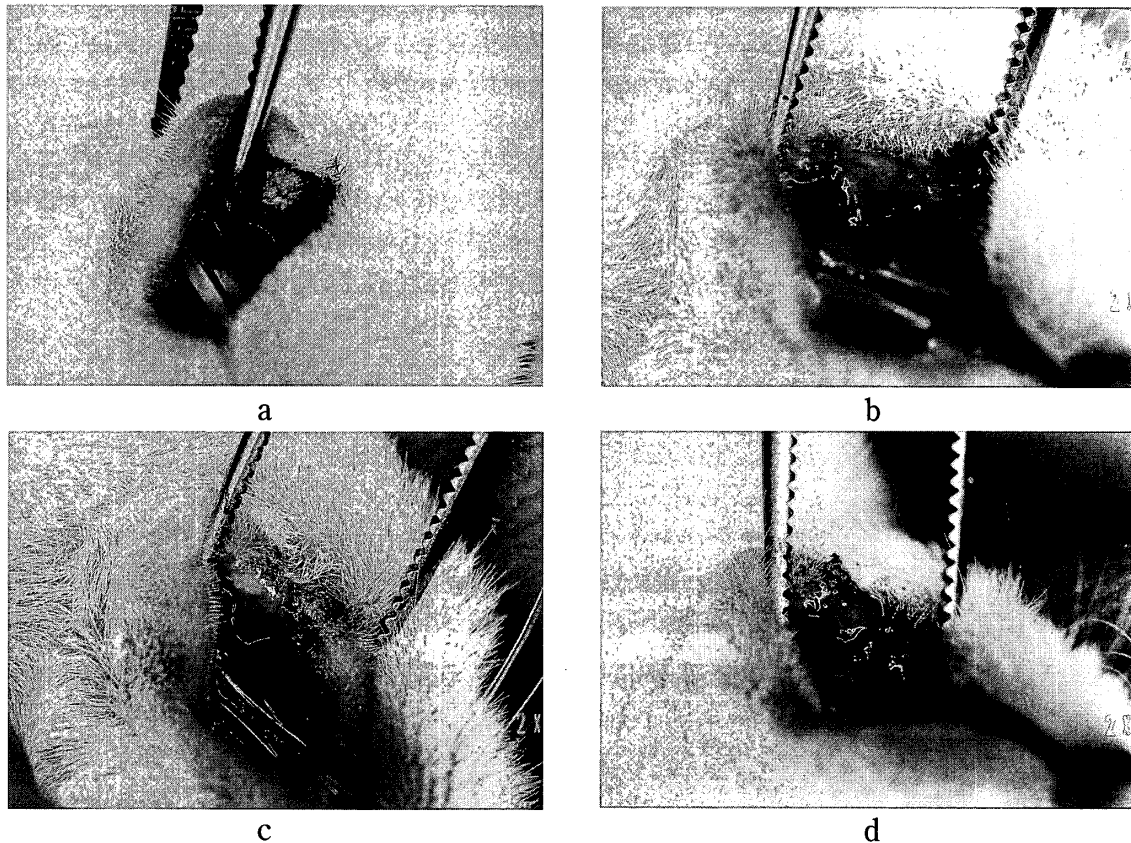


Fig. 4 Evidence in the mouth after laser irradiation

- a : control group (just laser irradiation)
- b : control group (after irradiation for five days)
- c : 1% chitosan oligosaccharide group (after irradiation for five days)
- d : 10% chitosan oligosaccharide group (after irradiation for five days)

照射5日後における4倍拡大像をFig. 6a~dに示した。対照群においては表層に一部上皮の修復が観察されるが、レーザー照射の中心部分と思われる部位では炎症性細胞の残存が認められた。また、上皮の連続性は認められなかった (Fig. 6a)。1%投与群において、表層では周囲から上皮の形成が進行しているのが認められるが、一部においては連続性が認められない部分も観察された。また、下層では線維芽細胞が観察され、さらにその下層では多数の血管とともに炎症性細胞の存在も認められた (Fig. 6b)。5%投与群では下層において多数の炎症性細胞とともに線維芽細胞を思わせる細胞が観察されたが、表層における上皮の形成は認められなかった (Fig. 6c)。10%投与群では表層下層を問わず多数の炎症性細胞の強い浸潤が観察されるのみで、下層における線維芽細胞はほとんど見られなかった。さらに、上皮様構造も

全く観察できなかった (Fig. 6d)。

4) 照射5日後の40倍拡大像

照射5日後における表層直下の40倍拡大像をFig. 7a~dに示した。キトサンオリゴ糖を投与していない対照群においては全体的に疎な組織像を呈しており、散在性に存在する多数の炎症性細胞の他、比較的少数の線維芽細胞が観察された。また血管の新生はほとんど観察されなかった (Fig. 7a)。1%投与群では対照群と比較して細胞が密になり、多数の線維芽細胞と毛細血管が観察された。さらに炎症性細胞の浸潤も認められた (Fig. 7b)。キトサンオリゴ糖の濃度を5%まで上げると、炎症性細胞の数は比較的減少に転じ、代わって毛細血管の新生と多数の線維芽細胞が見られるようになった (Fig. 7c)。しかし、10%濃度では再び組織が疎となり、線維芽細胞もほとんど認められなかった。また、血管の新生も著しく少なく、そのほ

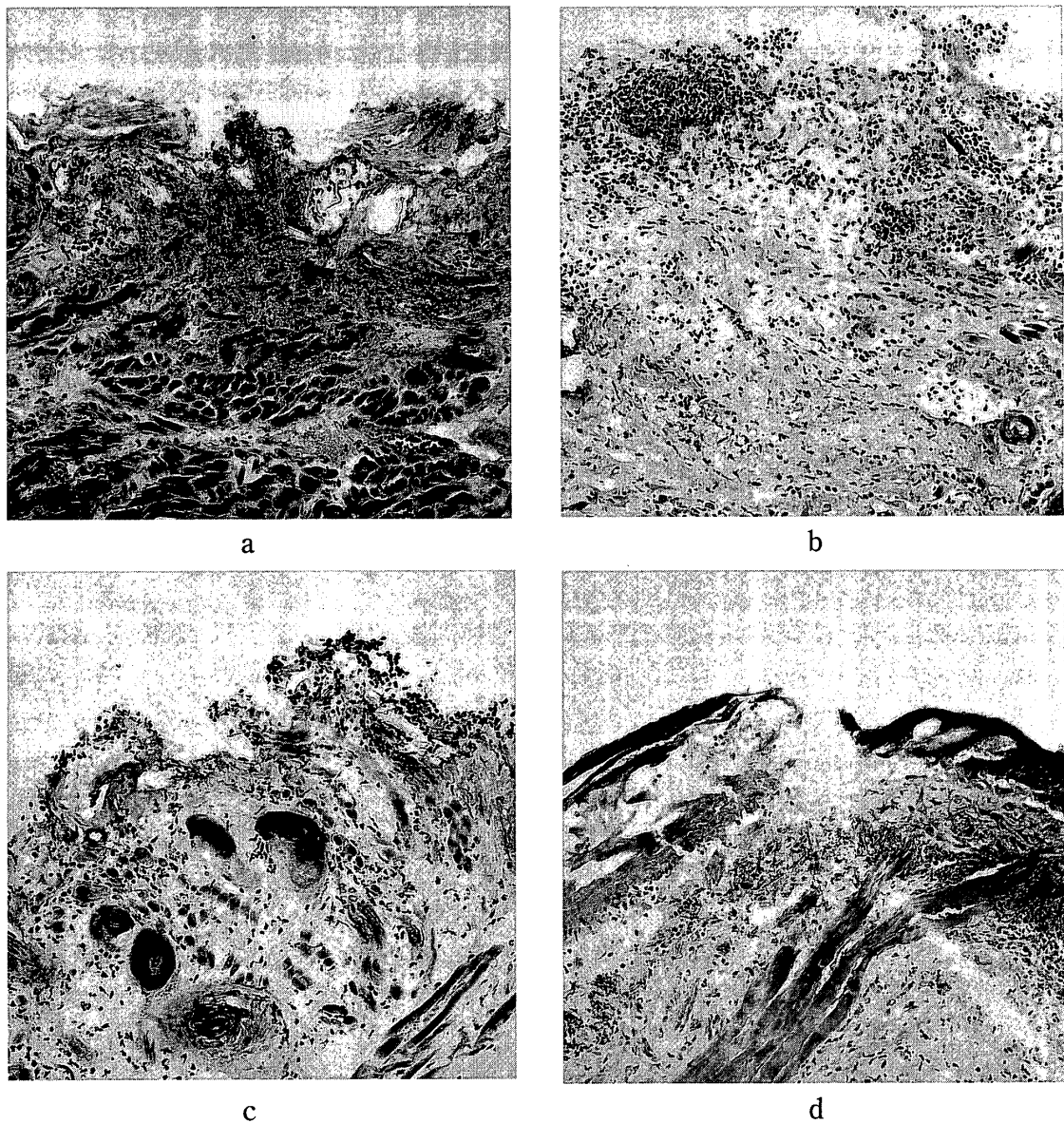


Fig. 5 Photomicrographs after laser irradiation for 24 hours (×4)

a : control group

b : 1% chitosan oligosaccharide group

c : 5% chitosan oligosaccharide group

d : 10% chitosan oligosaccharide group

とんどが多数の好中球で占められていた (Fig. 7d)。

考 察

カニやエビなどの甲殻類の甲殻成分であるキチンはセルロースと大変よく似た化学構造を持ち、その結晶構造も類似している¹⁴⁾。しかし、膨大なデータをもとにさまざまな分野で利用されているセルロースとは異なり、キチンはその存在が古くから知られていたにも関わらず、長い間、未利用生物資源として放置されてきた。化学的に安定で

反応性に乏しいことに加え、加工が難しかったことも原因の一つと考えられるが、近年では苛性ソーダや濃塩酸を用いてキチンの脱アセチル化を行う技術や、低分子化させる技術が確立され、いわゆる水溶性キトサンとしてキトサンオリゴ糖が精製されるようになった。キトサンオリゴ糖による創傷治癒効果については、黄色ブドウ球菌接種によるイヌの皮下膿瘍に対する作用を検討した報告¹⁵⁾もあるが、創傷の治癒過程における線維芽細胞への影響などについては未だ十分には検索されていない。

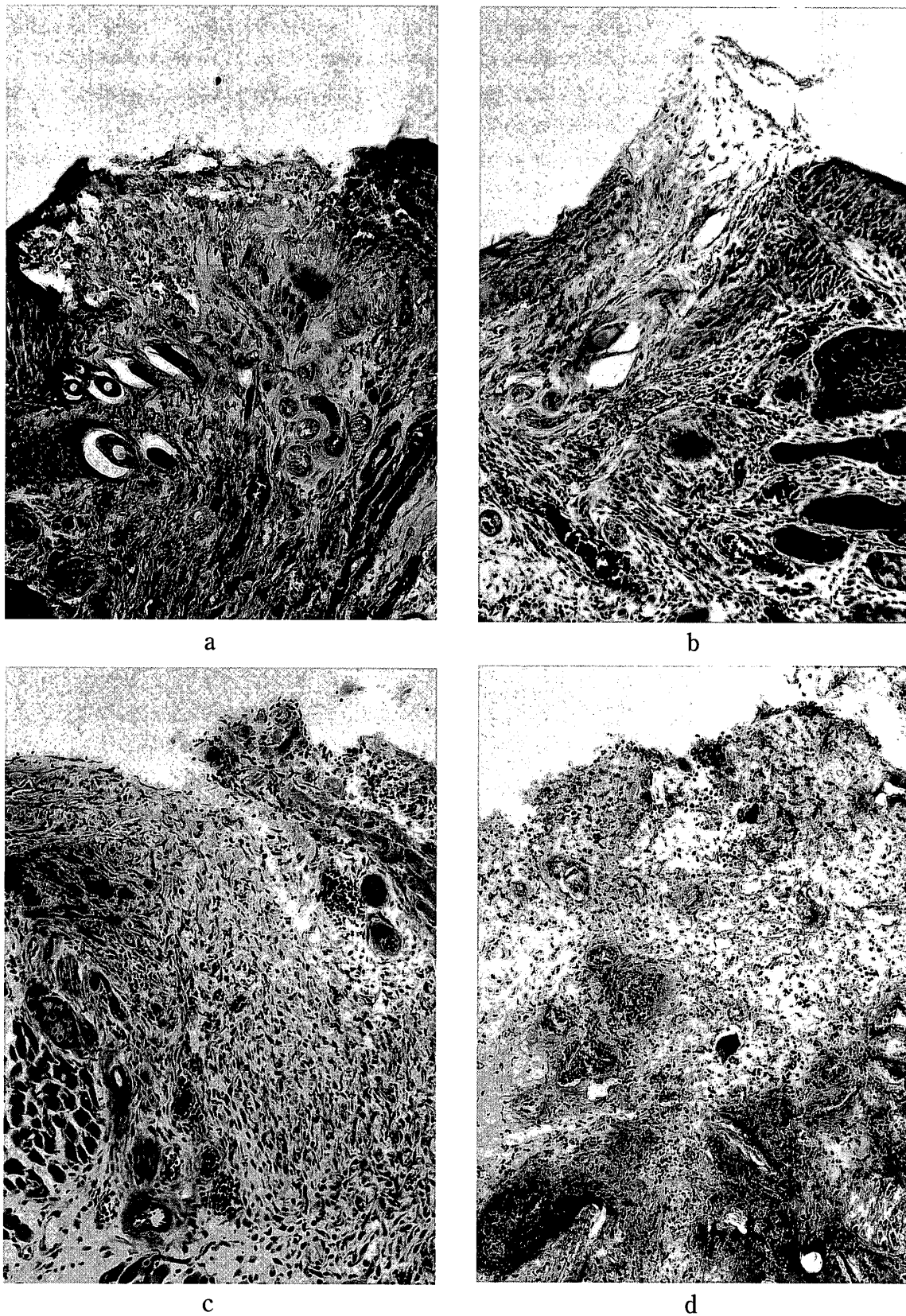


Fig. 6 Photomicrographs after laser irradiation for 5 days (×4)
a : control group b : 1% chitosan oligosaccharide group
c : 5% chitosan oligosaccharide group d : 10% chitosan oligosaccharide group

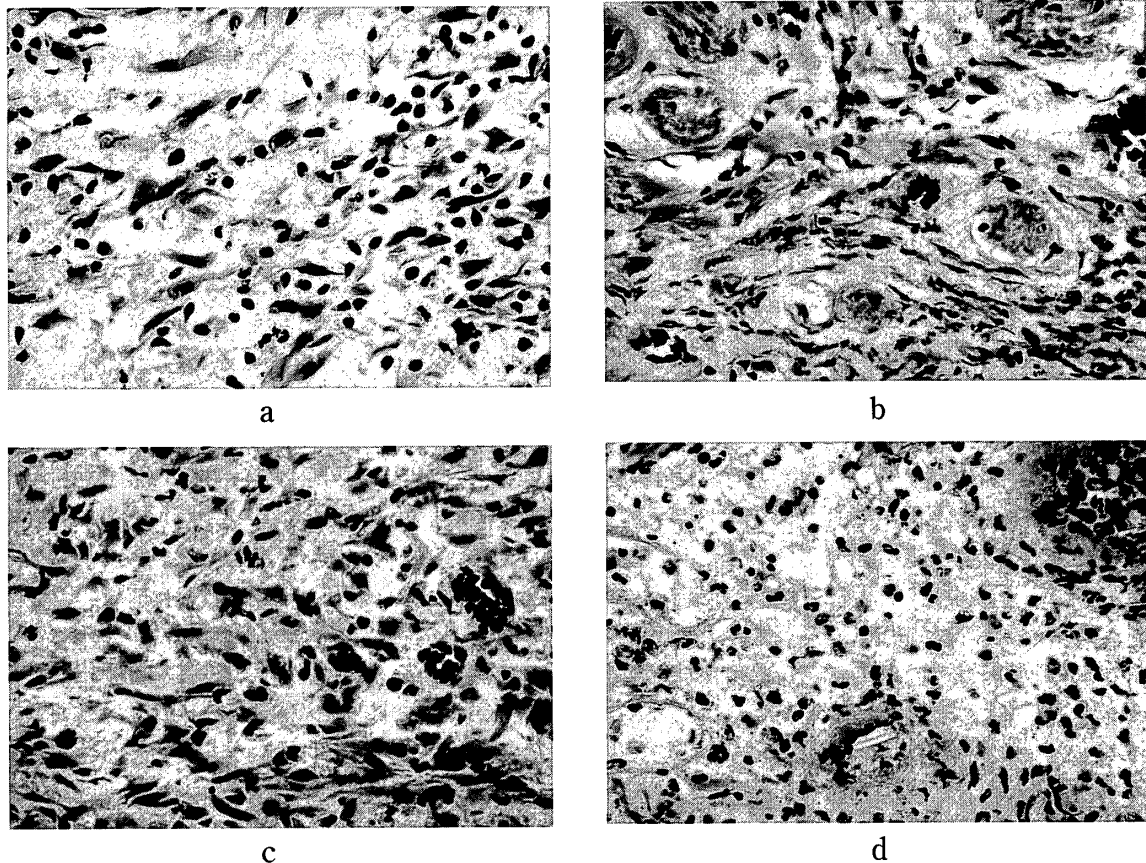


Fig. 7 Photomicrographs after laser irradiation for 5 days ($\times 40$)

a : control group

b : 1% chitosan oligosaccharide group

c : 5% chitosan oligosaccharide group

d : 10% chitosan oligosaccharide group

中村ら¹⁶⁾は、ヒト歯肉由来線維芽細胞をキチンとともに培養すると線維芽細胞の増殖が促進することを報告し、さらに富永ら¹⁷⁾はキチンシート上で線維芽細胞を培養した際、キチンの脱アセチル化率が35%のものが最も細胞増殖が促進し、それよりも脱アセチル化率が高くても、低くても細胞の増殖は抑制されることを報告している。キチン・キトサンのこのような線維芽細胞の増殖作用については、キチン・キトサンが線維芽細胞増殖のためのいわゆる足場となるといった理由以外に、キチン・キトサンが生体内においてマクロファージの産生するリゾチームによりモノマーへと分解され、同時にこのモノマーがマクロファージを活性化させてIL-1存在下のもと線維芽細胞の増殖が生じるとされている¹⁸⁾。そのためキチン・キトサンによる線維芽細胞の増殖を調べる*in vitro*系の実験ではマクロファージ培養上清を添加して培養する方法もとられるが、今回我々は線維芽細胞

の増殖に及ぼすキトサンオリゴ糖の直接作用を検討するため、マクロファージ無添加で培養を行った。その結果、培養時間あるいは添加濃度の条件によっては、僅かではあるが細胞数が増加することが示唆された (Fig. 3, Table 3)。実際に細胞数の有意な増加が認められた条件とは、培養開始から48時間後で、しかもキトサンオリゴ糖の添加濃度が0.5~0.75%の範囲に限られ、この濃度より高い濃度でも低い濃度でも線維芽細胞の増殖は促進されなかった。また1%添加群においてはむしろ細胞数の低下が認められた。

さて*in vivo*での所見であるが、レーザー照射から24時間後においてはすべての実験群に炎症性細胞の浸潤が認められ、中でも1%キトサンオリゴ糖投与群においては多数の好中球がレーザー照射部位と思われる場所に出現していた (Fig. 5)。一方、5日後では、1%キトサンオリゴ糖投与群における好中球数は減少に向かったが、10%投与

群では炎症性細胞の強い浸潤が見られるようになった (Fig. 6)。創傷部位にキチン・キトサンを適用させると、初期において多形核白血球の浸潤^{8,12,19}と組織球の増加⁷が見られることはよく知られている。その後、速やかに炎症性細胞は消失し、続いて強い線維芽細胞と血管新生の形成が起こり治癒に向かうと言われている。事実、今回の実験においても1%投与群では初期における好中球の浸潤と、それに続く線維芽細胞の増殖および血管の新生など、ほぼ同様の経過であった (Fig. 5b, Fig. 7b)。一方、10%投与群では1%投与群と比較して好中球が遅れて出現しており (Fig. 6d)、5日間を経過した後もなお線維芽細胞はほとんど増殖してこなかった (Fig. 7d)。また細胞も比較的疎の状態、血管の新生もほとんど認められなかった。

キトサンオリゴ糖やGlcNAcは、これら自身が多形核白血球の遊走因子であるだけでなく、線維芽細胞を刺激してIL-8の産生を促すことが知られている²⁰。またIL-8は強力な多形核白血球の遊走因子であるのに加え、創傷の治癒を促進することが知られていることから、このような創傷の治癒促進作用の発現に重要な役割を演じていると考えられている²¹。さらにこれら以外で創傷治癒促進作用に関係のある作用として、補体経路の活性化作用やIV型コラーゲンの合成作用などさまざまな報告¹²がなされているが、不明な点もなお多い。

本実験における10%キトサンオリゴ糖投与群では、好中球の出現が遅延したのに加え、線維芽細胞の増殖がほとんど認められない成績であった。またこのような傾向は*in vitro*においても同様に認められ、高濃度のキトサンオリゴ糖を添加した実験群においては、線維芽細胞の増殖が抑制される傾向にあった。詳細は不明であるが、線維芽細胞の増殖を促進させるためのキトサンオリゴ糖の用量にはある種の閾値が存在し、それを超過すると転じて抑制的に作用することが示唆された。また、キチン・キトサンの薬理作用に影響をあたえる因子としては、このような用量以外に脱アセチル化率が、またキトサンオリゴ糖の場合には脱アセチル化率に加えて糖の数が重要とされる。

富永ら¹⁷は、線維芽細胞の増殖が最も促進され

るのは脱アセチル化率が35%のものであるとした上で、キチンの脱アセチル化率と線維芽細胞の増殖促進作用との関係については、脱アセチル化により表面にプロトン化アミノ基の電子対が露出することと関係があるのではないかと述べている。さらに、この点に関しては大川ら²²はアセチル基の有無により細胞の認識機構は異なり、そのため生物活性に大きな相違が生じると述べている。実際、キチンの免疫増強活性作用²³と*E. coli*に対する抗菌作用²⁴については脱アセチル化率が70%前後のものが、また、抗カビ活性²⁵については脱アセチル化率が高いほど作用が強いと言われている。一方、オリゴ糖の場合には上記に加えて前述のごとくさらに糖数の相違により薬理活性が著しく異なることが知られており、キトサンオリゴ糖による抗腫瘍効果について鈴木²⁶は6量体のみに抗腫瘍効果が認められ、5量体以下の低分子オリゴ糖では抑制効果は認められなかったとし、さらに7量体においても効果の点で6量体に勝るところがなかったと結論している。また内田²⁵はキトサンオリゴ糖による抗菌作用の発現には5~6量体以上が有効と述べるなど、多彩な生物活性が僅かな化学構造の違いによって発現することが次第に明らかになってきた。今回我々が用いたキトサンオリゴ糖は2糖~7糖が混在したオリゴ糖であるが、今後はキトサンオリゴ糖の脱アセチル化率、あるいは糖数と生物活性との関係を詳細に検討する必要があると思われる。

結 論

キトサンオリゴ糖の全身投与が創傷治癒過程にどのような影響を及ぼすのか、ヒト歯肉由来線維芽細胞およびICRマウス口腔粘膜を用いて*in vitro*および*in vivo*の両面から検討した結果、次の結論が得られた。

1. 0.5%~0.75%のキトサンオリゴ糖の存在により、培養初期において線維芽細胞の増殖が促進された。一方、高濃度のキトサンオリゴ糖の存在下では細胞数が減少した。

2. キトサンオリゴ糖の全身投与により線維芽細胞の増殖が促進された。しかし、過量連続投与では逆に線維芽細胞の増殖が抑制された。

以上のことよりキトサンオリゴ糖は*in vitro*において線維芽細胞を増殖させ、*in vivo*における全身投与では創傷の治癒を促進させることが示唆された。また、*in vitro*、*in vivo*いずれの場合にも用いる薬物量には至適用量が存在した。

本論文の要旨は、第45回歯科基礎医学会（2003年9月岩手）において発表した。

文 献

- 1) キチン, キトサン研究会編: キチン, キトサン実験マニュアル 第1版; 9-17 技報堂出版 東京 1991.
- 2) Prudden, J.F., Migel, P., Hanson, P., Friedrich, L. *et al.*: The discovery of a potent pure chemical wound-healing accelerator. *Amer J Surg* **119**; 560-564 1970.
- 3) Suzuki, S., Okawa, Y., Okura, Y., Hashimoto, K. *et al.*: Immunoadjuvant effect of chitin and chitosan. The Japanese society of chitin and chitosan (Ed, Hirano, S. and Tokura, S.) ; 210-212 Tottori Univ Tottori 1982.
- 4) Jennings, C.D., Boleyn, K., Bridges, S.R., Wood, P. J. *et al.*: A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan, and oat gum in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* **189**; 13-20 1988.
- 5) 吾郷昭夫, 権田辰夫, 川上浩平, 武智真由美ほか: 高血圧自然発症ラットの血圧, 血漿脂質に及ぼすキトサン投与の影響—化学処理キトサンと微生物処理キトサンでの比較—. *実験動物技術* **31**; 105-114 1996.
- 6) 三田康蔵: キトサンの抗菌作用と安全性. *フレグランスジャーナル* **2**; 80-84 1989.
- 7) 岸本三郎, 玉置公一: 創傷治癒に対するキチン膜の作用機序について. *皮紀要* **82**; 471-479 1987.
- 8) 遠藤弘康, 増永 浩, 田原 洋, 松江美代子ほか: ラット創傷部に対するキチンの効果について. *日歯周誌* **36**; 177-187 1994.
- 9) 鈴木雅子: 創傷治癒過程におけるキチン結合性タンパク質の作用機構. *獣医生化学* **39**; 21-29 2002.
- 10) 大島良夫, 西野健一, 奥田良三, 磯部博子ほか: 皮膚全層欠損創における綿状キチンの使用経験. *日職災医誌* **43**; 287-292 1995.
- 11) 永瀬 洋: 分層採皮創に対する改良型キチン不織布 (改良型ベスキチン®W) の臨床効果. *新薬と臨牀* **44**; 1255-1262 1995.
- 12) 南 三郎, 岡本芳晴, 重政好弘: キチン及びキトサンの創傷治癒促進機構. *獣医麻酔* **30**; 1-14 1999.
- 13) 渡部俊彦, 日野綾子, 小野幸栄, 三上 健ほか: キチンおよび低分子キチン長期経口投与と老齢マウスの免疫細胞に及ぼす影響について. *キチン・キトサン研究* **3**; 11-15 1997.
- 14) Gardner, K. H. and Blackwell, J.: Refinement of the structure of β -chitin. *Biopolymers* **14**; 1581-1595 1975.
- 15) 南 三郎, 岡本芳晴, 橋本 皓, 江口博文ほか: キトサンオリゴマーの創傷治癒効果. *日獣会誌* **48**; 419-422 1995.
- 16) 中村 幹, 徳久道生, 富永尚宏, 空閑祥浩ほか: キチンの線維芽細胞増殖および上皮成長因子産生に及ぼす影響. *日口外誌* **43**; 157-164 1997.
- 17) 富永和宏, 富永尚宏, 徳久道生, 木船絃爾ほか: 歯肉由来線維芽細胞様細胞および骨芽細胞に及ぼすキチンの脱アセチル化の影響. *日口外誌* **44**; 941-950 1998.
- 18) 池田 毅, 柳口嘉治郎, 林 善彦: 歯科領域への応用—う蝕・歯槽骨治療を中心として—. *バイオインダストリー* **4**; 22-30 2002.
- 19) 松永若利: 被覆材料ベスキチン®Wの分層皮膚採皮創に対する病理組織・免疫組織化学的検討. *新薬と臨牀* **41**; 2018-2028 1992.
- 20) Mori, T., Okumura, M., Matsuura, M., Ueno, K. *et al.*: Effects of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts *in vitro*. *Biomaterials* **18**; 947-951 1997.
- 21) Rennekampff, H. O., Hansbrough, J. F., Kiesig, V., Doré, C. *et al.*: Bioactive interleukin-8 is expressed in wounds and enhances wound healing. *J Surg Res* **93**; 41-54 2000.
- 22) 大川喜男, 鈴木. 光, 鈴木茂生, 鈴木益子: キチンとキトサンのマウス腹水型腫瘍に対する抗腫瘍性の作用機序について. *東北薬大研究年報* **41**; 173-177 1994.
- 23) Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Saiki, I. *et al.*: Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine* **2**; 93-99 1984.
- 24) 戸倉清一: キチンおよびキトサンの免疫賦活性. *フードケミカル* **2**; 19-24 1995.
- 25) 内田 泰: キチン・キトサンおよび関連化合物の抗菌性とその応用. *化学工業* **10**; 793-799 1991.
- 26) 鈴木茂生: キチン, キトサンおよび低分子同族体オリゴ糖の生物活性. *Biotherapy* **14**; 965-971 2000.

著者への連絡先: 千葉 有, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科薬理学講座
Reprint requests: Yu CHIBA, Department of Dental Pharmacology, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan